

⑫公表特許公報(A)

平3-505462

⑬公表 平成3年(1991)11月28日

⑮Int.Cl.⁵
A 61 K 45/06

識別記号

府内整理番号

ABN 8415-4C
ABR 8415-4C
ADD 8415-4C※審査請求
予備審査請求未請求
未請求

部門(区分) 3(2)

(全11頁)

⑭発明の名称 治療用化合物、組成物およびその使用

⑯特 願 平2-505651

⑯翻訳文提出日 平2(1990)12月10日

⑯⑯出 願 平2(1990)4月10日

⑯国際出願 PCT/GB90/00540

⑯国際公開番号 WO90/11769

⑯国際公開日 平2(1990)10月18日

優先権主張 ⑯1989年4月10日⑯イギリス(GB)⑯8908023.8

⑰発明者 ネイ、アースラ、メリイ イギリス国 エスイー24 0エイエイ ロンドン、フェーンディーン ロード 98

⑯出願人 セルテツク リミテッド イギリス国 エスエル1 4イーエヌ スラウ、バス ロード 21
6

⑯代理人 弁理士 浅村皓 外3名

⑯指定国 A T(広域特許), A U, B E(広域特許), C H(広域特許), D E(広域特許), D K(広域特許), E S(広域特許), F R(広域特許), G B(広域特許), I T(広域特許), J P, K R, L U(広域特許), N L(広域特許), S E(広域特許), U S

最終頁に続く

添書(内容に変更なし)

請求の範囲

- (1) 脳血管への血液供給の欠乏の処置に併用して使用するための血管拡張剤とカルシウム拮抗剤
- (2) 脳血管への血液供給の欠乏の処置に併用して使用するためのカルシトニン遺伝子関連ペプチドとニモジピン
- (3) 有効量のカルシウム拮抗剤と血管拡張剤を投与する、脳血管への血液供給が欠乏したヒト対象の処置方法
- (4) 血管拡張剤とカルシウム拮抗剤からなる医薬組成物
- (5) 単位用量剤形の医薬組成物であつて、各単位用量は脳血管への血液供給を選択的に上昇させる作用を示し、血圧には実質的に影響せずに心拍数を有意に上昇させない量の血管拡張剤とカルシウム拮抗剤からなり、これらを医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤と配合してなる医薬組成物
- (6) 医薬的に許容される担体、賦形剤または希釈剤、血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤を混合することからなる請求項(5)記載の医薬組成物の製造方法
- (7) 脳血管への血液供給の欠乏の処置用の医薬の製造のための血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の組合せての使用
- (8) 活性成分として血管拡張剤をカルシウム拮抗剤

を組合せた脳への血液供給の欠乏の治療用薬剤

(9) 血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せてなる脳血液供給改善剤

(10) 患者に血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せて投与する脳への血液供給の欠乏の処置方法

治療用化合物、組成物およびその使用

発明の分野

本発明は、脳への血液供給の欠乏の処置における血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の併用使用およびそれらを含有する医薬組成物に関する。とくに本発明は、脳への血液供給の欠乏の処置における CGRP とニモジピンの使用およびそれらを含有する組成物に関する。

発明の背景

カルシウムは細胞機能の必須成分である。全身および冠の動脈、ならびに脳組織を含む体内の多くの他の組織が、細胞膜を横切るカルシウムの移動によって影響される。たとえば、心臓および血管平滑筋の収縮過程は、細胞膜に存在する特異的なイオンチャネルを通して、細胞外カルシウムが細胞内へ移動することに依存している。カルシウムチャネル遮断剤は、スローチャネル遮断剤またはカルシウム拮抗剤とも呼ばれ、細胞膜を横切るカルシウムイオンの移動を抑制する能力を有する。

カルシトニン遺伝子関連ペプチドは、カルシトニン遺伝子発現系の産物である。カルシトニン遺伝子から転写される RNA の別のプロセッシングにより、神経伝

用が、ヒトでの脳への血液供給の欠乏の処置に有用であることを見出した。

発明の要約

したがつて、本発明はその第一の態様として、脳血管への血液供給の欠乏の処置に併用するための血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤を提供する。

脳への血液供給の欠乏の処置に有用であるためには、治療剤は、血液供給が所望の部位において上昇するよう、脳血管床に選択性に作用できることが必須である。さらに必須な要求としては、血液供給は血圧を実質的に低下させることなく上昇されねばならないことがある。また、治療剤は所望の効果を、心拍数を有意に上昇させることなく達成することが望ましい。脳血管の収縮を逆転させるために現在行われている治療法は、同時に血圧を低下させ、そのため根元的問題を増悪させることから満足できるものではない。さらに、現在用いられている治療法の一部は、望ましくない心拍数の増加を伴うことがある。したがつて、現在の治療法に付随する副作用のない、脳血流の回復および/または脳血管痙攣の逆転のための有効な処置が現実に望まれている。本発明者らは、適量のカルシウム拮抗剤と血管拡張剤の併用投与によって、要求される作用部位の選択性と所望の脳への血液供給の増大の両者が、血圧への実質的影响および心拍数の有意な上昇を

特表平3-505462 (2)

域では CGRP、3 アミノ酸ペプチドの産生が起こる。CGRP は多くの種、たとえばラット、ニワトリおよびヒトで発見されている。CGRP は、互いに数個未満のアミノ酸が異なるのみのきわめて類似した近縁化合物群である。CGRP は、これまで、血管を拡張させ血圧を低下させるというその心臓管系に対する性質により、主として高血圧症の処置に有用であると報告されている。CGRP はまた、カルシウムの調節および胃酸分布にも関与すると考えられている。

脳への血液供給は、多くの原因、たとえば脳血管痙攣によつて欠乏することがある。頭動脈の脳血管痙攣は脳出血に対する生体の自然の反応で、脳への血液の供給を遮断する。

脳出血たとえばクモ膜下出血は、脳内の脆弱化血管の破裂や頭部の機械的傷害(外傷)等、多くの原因がある。脳への血液の供給、すなわち酸素の供給が回復しないと、脳血管痙攣は通常、脳傷害を、そして時に死を招くことになる。

脳への血液の供給は、梗塞すなわち脳血管の閉塞または脳出血を生じる脳血管の破裂のいずれかによる卒中の場合にも欠乏する。

脳への血液供給はまた、片頭痛発作の間にも遮断され、したがつて脳への血液供給の回復により片頭痛発作の症状を緩和させることが可能である。

本発明者らは、カルシウム拮抗剤と血管拡張剤の併

生じることなく達成できることを見出したのである。

カルシウム拮抗剤のニモジピンと血管拡張剤の CGRP の併用は、全く予期し得なかつた相乗効果を生じる。公告された国際特許出願 WO 89/03686 号に記載の脳血管血流の欠乏の処置への CGRP の使用は一般に、心拍数の増加を伴い、これを减弱または消失させることが望ましい。本発明者らは、CGRP とニモジピンの併用により、驚くべきことに、CGRP 関連の心拍数の増加の减弱または消失を生じることを見出した。標準的な薬理学的原則からの期待では、心拍数に対する CGRP の作用は強力で、CGRP とニモジピンを併用してもなお心拍数の上昇が起こるものと考えられた。

さらに、CGRP のニモジピンとの併用では、内頭動脈への血流の改善を生じる。血流は、各薬剤を単独に使用した場合より高レベルに達し、それは個々の場合のレベルの和よりも高くなる。

これは、CGRP とカルシウム拮抗剤の併用によつて、望ましくない作用を生じることなく、所望の治療効果が達成できることを意味し、この場合、各活性成分は、いずれかの化合物を単独で投与して同じ効果を達成するためには要求されるよりも低用量、たとえば 1 日分の 1 の用量投与すればよい。

カルシウム拮抗剤と血管拡張剤の併用は、驚くべきことに、望ましくない付加的な作用は何ら生じない。たとえば、CGRP もニモジピンも十分高用量を投与す

ジピンがとくに有用であり、ニモジピンと血管拡張剤の併用がとくに好ましい。

本明細書で用いられる血管拡張剤の語は、血管の拡張を生じ、直接カルシウムチャネルの遮断を起こさず、カルシウム拮抗剤と併用した場合には脳血管床に優先的に作用して血圧には実質的に影響をもたらすことなく脳への血液の供給を特異的に増大する化合物を指している。

本発明に使用される血管拡張剤は好ましくは、単独でもまたカルシウム拮抗剤と併用しても、実質的に血圧に影響することなく、脳血管床に優先的に作用して脳への血液供給を特異的に増大させる。所望の活性像を示すこのような血管拡張剤の例には、CGRPおよび本明細書においてはCGRPの語で呼ばれる天然のCGRP以外の、CGRPに特徴的な脳血管血流供給作用を有する、すなわち、実質的に血圧に影響することなく脳血管床に優先的に作用して脳への血液供給を特異的に増大させる、たとえば1989年10月20日出願の国際特許出願第PCT/GE89/01249号に記載されているような、その生物活性フラグメント、類縁体および誘導体が含まれる。CGRP、フラグメント、類縁体および誘導体は、天然に存在するものであつてもよく、また化学的にたとえば化学的修飾、切断もしくは合成により製造されてもよく、また組換えDNA技術を用いて製造されてもよい。フラグメント、類縁体お

れば降圧作用を発現し、両者の併用はいずれかの化合物の単独では血圧に影響しない用量でも血圧への作用が認められる相加的降圧作用を生じることが予測された。しかしながら、このような作用は全くみられなかつた。

カルシウム拮抗活性を有する化合物には多くの種類がある。たとえば、フェニルアルキルアミンとその誘導体たとえばペラパミール；ベンゾチアゼピンとその誘導体たとえばジルチアゼム；ジフェニルアルキルアミンとその誘導体たとえばプレニルアミン；シンナミル；ジフェニルメチルピペラジンとその誘導体たとえばシンナリジンおよびフルナリジン、ならびに英国特許第1,173,862号、ドイツ特許第DE 2,407,115号および米国特許第3,485,847号に記載のジヒドロピリジン誘導体がある。ジヒドロピリジン誘導体たとえばニフェジピン[1,4-ジヒドロ-2,6-ジメチル-4-(2-ニトロフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸ジメチルエステル]、ニフェジピン[1,4-ジヒドロ-2,6-ジメチル-4-(3-ニトロフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸メチル-2-[メチル(フェニルメチル)アミノ]エチルエステル]およびニモジピン[1,4-ジヒドロ-2,6-ジメチル-4-(3-ニトロフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸イソプロピル(2-メトキシエチル)エステル]が好ましい。本発明者らは、ニモ

および誘導体は非ペプチド化合物またはペプチド化合物を包含してもよい。CGRPは、動物CGRPたとえばラットもしくはニワトリCGRPでもよいが、ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチド(hCGRP)であることが好ましい。ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチドは、たとえば米国特許第4,549,986号に記載されている α -hCGRPおよび欧州特許出願第EP 1 884 00 A号に記載されている β -hCGRPとして知られている少なくとも2種の型で存在する。 α -hCGRPの使用がとくに好ましい。

本発明においては、CGRPとニモジピンの併用がとくに好ましい。血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の併用は、たとえばクモ膜下出血、卒中、外傷および片頭痛に伴うヒトの脳血管血液供給の欠乏の処置にとくに有用である。

本発明の第二の態様によれば、本発明は、脳血管血液供給の欠乏を生じているヒト対象の処置方法において、その対象にカルシウム拮抗剤と血管拡張剤の有効量を投与する方法を提供する。

通常用いられる血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の量は、その併用が血圧に実質的に影響を与えることなく、心拍数を有意に上昇させることなく脳血管の血液供給を特異的に増大させるのに有効な量である。

第三の態様においては、本発明は、血管拡張剤ならびにカルシウム拮抗剤からなる医薬組成物を提供する。

第四の態様においては、本発明は単位剤形からなる医薬組成物を提供し、この場合、各単位剤形は、血圧に実質的に影響を与えることなく心拍数を有意に上昇させることなく脳血管の血液供給を特異的に増大させる血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の量を、医薬的に許容される粗体、賦形剤または希釈剤と混合したものである。

本発明の第四の態様による医薬組成物は、好ましくはCGRP 0.01～1.620 μg、CGRPを好ましくは0.08 μg～1.260 μg、CGRPをさらに好ましくは5～1.260 μg、CGRPをとくに好ましくは5～9.00 μg；好ましくはニモジピンを0.07～8.4 mg、ニモジピンをさらに好ましくは0.35～4.2 mg、ニモジピンをとくに好ましくは0.7～3.0 mg含有する。

本発明の第五の態様においては、本発明は、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤を、医薬的に許容される粗体、賦形剤または希釈剤と緊密に混合することからなる本発明の第四の態様の医薬組成物の製造方法を提供する。

第五の態様においては、本発明は、血圧に実質的に影響を与えることなく、心拍数を有意に上昇させることなく、脳血管血流の供給を特異的に増大させるのに十分な単位用量の約数になる量を医薬的に許容される粗体、賦形剤または希釈剤と緊密に混合することからなる単位剤形の医薬組成物を製造する方法を提供する。

第六の態様においては、本発明は、脳血管血液供給の欠乏の処置用医薬の製造のための、血管拡張剤の、

カルシウム拮抗剤との併用による使用を提供する。

第七の態様においては、本発明は、活性成分として、血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せた、脳の血液供給の欠乏の治療用薬剤を提供する。

第八の態様においては、本発明は、血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せてなる脳の血液供給改善剤を提供する。

第九の態様においては、本発明は、患者に血管拡張剤をカルシウム拮抗剤と組合せて投与することからなる脳の血液供給欠乏の処置方法を提供する。

本発明の方法による血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の投与に際しては多数の方法があつて、任意に選択できることを理解すべきである。たとえば、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤は任意の順序で、各投与間に任意の間隔を置いて順次投与することができる。別法として、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤は共投与することもできる。本明細書において用いられる共投与の語は、血管拡張剤とカルシウム拮抗剤と一緒に処方して单一の医薬製剤で投与する場合、また血管拡張剤とカルシウム拮抗剤を別個に処方して同時に投与する場合を包含する。血管拡張剤とカルシウム拮抗剤は、たとえば一方は経口投与用に処方し、他方は静脈内投与用に処方するなど、別個に処方することもできる。

好みしくは、血管拡張剤は静脈内投与用に、カルシウム拮抗剤は経口投与用に処方される。とくに好みし

て提供することもできる。このような液体製剤は、医薬的に許容される添加剤、たとえば、懸濁剤、乳化剤、非水性ビヒクルおよび防腐剤を用い、慣用手段によつて製造することができる。これらの製剤にはまた、緩衝塩、フレーバー、着色剤および甘味剤を適宜加えることもできる。

経口投与用製剤は、活性化合物の制御放出が可能のように適当に製剤化することもできる。

經頸投与用には、組成物を慣用様式により、錠剤またはロゼンジの形態とすることができる。

血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤は、注射たとえば単回注射または連続注入による非経口投与用に製剤化することもできる。注射用製剤は単位用量剤形として提供することができる。組成物は、油性または水性ビヒクル中、たとえば懸濁液、溶液または乳化液のような形態とし、懸濁剤、安定剤および／または分散剤のような調剤試薬を含有させることができる。別法として、活性成分は、使用前に適当なビヒクルたとえば滅菌したパリオジエンを含まない水で調製するための粉末形態とすることもできる。

血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤は、たとえばココア脂または他のグリセライドのような慣用の坐剤基剤を含有する坐剤または停滯浣腸剤のような経直腸組成物に製剤化することもできる。

上述の製剤に加えて、血管拡張剤およびカルシウム

くは、血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の両者が静脈内投与用に処方される。

本発明に使用される医薬組成物は、慣用の方式によつて、所望により1種または2種以上の生理的許容される組体、希釈剤または試形剤とともに製剤化することができる。

本発明に使用される血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤は、経口、經頸、非経口もしくは経直腸投与用に、または經鼻投与もしくは吸入あるいは気体組体中投与に適当な形態に処方できる。

経口投与用には、医薬組成物はたとえば、医薬的に許容される試形剤たとえば結合剤（たとえば、ゲル化トーモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、充填剤（たとえば、乳糖、微結晶セルロースまたはリン酸水素カルシウム）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム、タルクまたはシリカ）、崩壊剤（たとえば馬鈴薯デンプンまたはグリコール酸ナトリウム）、または潤滑剤（たとえばラウリル硫酸ナトリウム）を用いて慣用手段で製造される錠剤またはカプセル剤の形態とすることができる。錠剤は本技術分野においてよく知られた方法によつてコーティングを施してもよい。経口投用の液体製剤は、たとえば、溶液、シロップまたは懸濁液の形態とすることができ、また使用前に水もしくは他の適当なビヒクルにより調製される乾燥製品とし

て提供することもできる。このような液体製剤は、医薬的に許容される添加剤、たとえば、懸濁剤、乳化剤、非水性ビヒクルおよび防腐剤を用い、慣用手段によつて投与できる。

經鼻投与または吸入投与用には、本発明に用いられる化合物は、適当な噴射剤たとえばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の適当な气体を用い、エアアルスプレーの形態で耐圧容器またはネブライザーから送達させるのが便利である。

所望により、この組成物は、活性成分含有単位用量剤形1個または2個以上を含むパックまたはディスペンサー装置として提供することもできる。パックまたはディスペンサー装置には投与の指示書が添付される。

本発明の第一から第九までの態様の好みしい実施態様においては、カルシウム拮抗剤はニモジピンであることが好みしく、血管拡張剤はCGRPであることが好みしく、さらに好みしくはヒトCGRP、とくに好みしくはヒトα-CGRPである。

カルシウム拮抗剤と血管拡張剤を組合せてヒトに投与する場合の用量は、脳血流が選択的に上昇し、血圧には実質的に影響がなく、また心拍数には有意な上昇のないような用量である。血管拡張剤とカルシウム拮抗剤の正確な用量は、投与経路、その血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の強さ、ならびに患者の体质および病状によつて決定される。重要な因子は、標的血管

床に存在する血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の濃度と考えられる。所望の効果を得るために患者に投与すべき血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の用量は、個々の患者につき、カルシウム拮抗剤と組合せて低用量の血管拡張剤を10～20分間投与し、ついで所望の効果が認められるまで10～20分毎に用量を増加させて決定される。血管拡張剤たとえばCGRPは、平均的な70kgのヒトの場合、0.01～32ng/kg/分の範囲、好ましくは0.06～24ng/kg/分の範囲、さらに好ましくは2～24ng/kg/分の範囲、とくに好ましくは2～16ng/kg/分の範囲の用量でIV注入によつて投与できる。たとえば α -CGRPおよび β -CGRPは平均的な70kgのヒトの場合、2ng/kg/分～5ng/kg/分の用量を20分の時間を要してIV注入により投与される。場合によつては、患者に、CGRPをもつと長時間、たとえば1時間までもしくはそれ以上たとえば12時間、または24時間以上にわたつて注入することが望ましい。

カルシウム拮抗剤たとえばニモジピンは、平均的な70kgのヒトの場合、1～100 μ g/kg/時の範囲、好ましくは5～50 μ g/kg/時の範囲、とくに好ましくは10～35 μ g/kg/時の範囲の用量でIV注入により投与できる。

経口投与の場合は、カルシウム拮抗剤は、平均的な70kgのヒトで、0.05～20 μ /kgの範囲、好まし

くは0.5～8 μ /kgの範囲の用量を投与できる。

カルシウム拮抗剤およびカルシウム非依存性血管拡張剤は、必要なだけ頻回に投与することができる。たとえば1日に2回以上、たとえば1日に2～6回投与される。処置時間はたとえば20分～24時間であり、この処置時間はたとえば21日まで継続してもよい。

本発明に使用されるカルシウム拮抗剤は、標準的化學操作を用いて得ることができる。たとえば、ニモジピンは英國特許第1173862号の記載に従い、ニカルジピンはドイツ特許第DE 2407115号の記載に従い、またニフェジピンは米国特許第3485847号の記載に従つて製造できる。

本発明に使用されるCGRPは、英國特許第2141430B号および公開歐州特許出願第EP-A-188400号の記載に従い、組換えDNA技術を用いて得ることができる。別法として、CGRPは、本技術分野においてよく知られている慣用方法により、たとえば公開歐州特許出願第EP-A-188400号の記載に従い、化学合成によつても製造できる。

CGRPとニモジピンのようなカルシウム拮抗剤との組合せは、所望の作用像すなわち、脳血管床に選択性に作用し、血圧に実質的に影響せず、心拍数を有意に上昇させないことから、脳への血液供給の欠乏の処置にとくに有用である。

血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤が脳血管への血

液供給を選択的に増大させる能力は、以下の実施例に述べるように、ドプラー法を用いて動物およびヒトで試験できる。血管拡張剤およびカルシウム拮抗剤の血圧および心拍数に対する作用は、慣用方法を用いて測定できる。

図面の簡単な説明

CGRPおよびニモジピンによつて生じる脳血管血液供給の選択性の増加は、以下に記載するドプラー法を用いたラットにおいて、添付の図面に示すように明らかにされた。

第1図は、ラットに30分間様々な濃度のCGRPおよびニモジピンをそれぞれ別個に注入した場合の心拍数、平均動脈圧、ならびに内頸動脈への血流量および血流速度に対する影響を示すグラフである。

●—● 0.06 nmol CGRP / 時

○—○ 0.6 nmol CGRP / 時

■—■ 60 nmol ニモジピン / 時

□—□ 600 nmol ニモジピン / 時

第2図は、ラットに30分間0.06 nmol/時のCGRPと60 nmol/時のニモジピンを併用注入した場合の、心拍数、平均動脈圧、ならびに内頸動脈への血流量および血流速度に対する影響を示すグラフである。

第3図は、無麻酔Long Evansラット($n=8$)におけるヒト α -CGRPおよび/またはニモジピンに対する

る心臓管系応答を示すグラフである。

左側のパネルは、ヒト α -CGRP(●—●, 0.06 nmol · h⁻¹)もしくはニモジピン(▲—▲, 60 nmol · h⁻¹)またはヒト α -CGRP(0.06 nmol · h⁻¹)プラスニモジピン(60 nmol · h⁻¹)(○—○), 30分注入に対する応答を示す。値は平均士SEMである。

右側のパネルは、ヒト α -CGRP(●—●, 0.6 nmol · h⁻¹)もしくはニモジピン(▲—▲, 600 nmol · h⁻¹)またはヒト α -CGRP(0.6 nmol · h⁻¹)プラスニモジピン(600 nmol · h⁻¹)(○—○), 30分注入に対する応答を示す。値は平均士SEMである($n=8$)。

特定の態様の説明

例1

この一連の実験は、様々な用量のCGRPおよびニモジピンを別個にまたは併用して投与した場合の脳血流および血圧への影響を測定するために企画された。

雄性Long Evansラット(350～400g)を使用した($n=8$)

ナトリウムメトヘキシトン(60 μ /kg, IP)麻酔下に、左側外頭動脈を結紮し(410網膜糸)、小型パルスドプラー消息子を左側外頭動脈の周囲に縫合した(内頸動脈流量のモニタリング用)。

特表平3-505462(6)

消息子移植後7~10日に、動物を再び麻酔し(ナトリウムメトヘキシトン、40mg/kg, i.p.)、カテーテルを血圧記録のために腹大動脈に(尾動脈を介して)、また薬剤/ペプチド投与のために右頭静脈に植え込んだ。

実験は、カテーテルの植え込み後1~2日目に、完全な覚醒し自由に運動させた動物で実施した。

第1日 : ニモジピンヒクル

ニモジピン(60nmol/時)

ニモジピン(600nmol/時)

第2日 : CGRP(0.06nmol/時)

CGRP(0.6nmol/時)

CGRP(0.06nmol/時)プラス

ニモジピン(60nmol/時)

注入は30分間0.3ml/時で行つた。

各注入の間には少なくとも60分の間隔を置いた。

ニモジピンヒクルの組成は

969gポリエチレングリコール400

100g蒸留水

60gグリセリン

とした。

ニモジピン溶液はすべて暗室中黄色フィルター(約550nm)下で調製した。

ニモジピンの投与に使用したシリングおよびカテーテルは黒の遮蔽で光から保護した。

表1

CGRP 0.06 nmol/時

時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+37(19)	+33(14)	+30(12)	+25(13)	+12(15)	+7(9)
△動脈圧(mmHg)	0(1)	-2(1)	-1(1)	-1(2)	+1(2)	0(1)
△CDS(%)	+10(3)	+14(4)	+8(5)	-10(2)	-4(6)	-2(3)
△CVR(%)	-9(2)	-13(4)	-6(5)	+11(6)	+8(6)	+4(4)

時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+92(17)	+99(14)	+91(13)	+14(7)	-9(9)	-6(14)
△動脈圧(mmHg)	-15(1)	-14(2)	-15(2)	+1(2)	+3(3)	+1(2)
△CDS(%)	+45(9)	+54(7)	+48(6)	+7(4)	+2(6)	+8(5)
△CVR(%)	-40(3)	-43(2)	-42(2)	-4(6)	+4(9)	-5(6)

時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	-6(9)	-1(9)	-14(14)	-18(9)	+2(10)	+3(10)
△動脈圧(mmHg)	+2(2)	+2(3)	+3(4)	-1(3)	+4(2)	+3(2)
△CDS(%)	+16(4)	+6(4)	+4(4)	+2(4)	-1(3)	-2(4)
△CVR(%)	-11(4)	-3(5)	+1(6)	-2(6)	+5(3)	+6(3)

時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+34(16)	+29(18)	+27(15)	+14(12)	+6(6)	+5(7)
△動脈圧(mmHg)	-19(2)	-17(4)	-19(1)	-9(2)	-6(2)	-5(2)
△CDS(%)	+32(8)	+32(8)	+40(10)	+33(10)	+29(14)	+29(9)
△CVR(%)	-37(4)	-36(4)	-40(4)	-29(5)	-22(8)	-23(7)

時間(分)	10	20	30	40	50	60
△HR(回/分)	+13(8)	+4(9)	+14(15)	+1(11)	-13(8)	+13(15)
△動脈圧(mmHg)	-3(3)	-1(3)	-4(3)	+3(2)	+3(1)	+3(1)
△CDS(%)	+30(5)	+27(5)	+40(10)	+15(5)	+14(5)	+10(7)
△CVR(%)	-25(3)	-22(3)	-30(4)	-10(4)	-8(4)	-4(5)

値は平均(S.E.M), n=8

CDS = 内頸動脈ドプラーシフト(血流)

CVR = 内頸動脈血管抵抗

CGRP(ヒトα)は1mol/Lアルブミン含有食塩水に溶解した。

結果は、表1・図1および図2に示す。

CGRP 0.06 nmol/時およびニモジピン 60 nmol/時の併用投与により、いずれかの化合物の単独投与で認められる効果より大きく、またそれらの用量での相加効果より大きい脳血流量の増加を生じた。これは相加的な降圧作用を生じることなく達成された。

例2

この一連の実験は、CGRPおよびニモジピンの、内頸動脈血管、局所循環、ならびに心拍数および血圧のような生理学的パラメーターに対する作用をみるために企画された。

実験はすべて、雄性 Long Evans ラット(350~450g)について実施された。動物は麻酔し(ナトリウムメトヘキシトン、60mg/kg, i.p., 必要に応じて追加)、以下の操作のひとつが行われた。

a) 左側外頭動脈を結紾したのち、同側の総頸動脈の周囲にパルスドプラー消息子を植え込む(Haywoodら、1981)。この配置により、開存の内頸動脈を通過する血流の評価が可能であつた。

b) 左側腎および上腸間膜動脈ならびに回盲動脈のレベル以下での位臥腹大動脈の周囲へのパルスドプラー消息子を植え込む(下肢への血流のモニタリング)

7~14日間の回復期ののち、動物を再び軽く麻酔し(ナトリウムメトヘキシトン、40mg/kg)、薬剤またはペプチド投与用(頭静脈)、ならびに腹大動脈からの瞬間心拍数(HR)および血圧(BP)記録用(尾動脈を介して)のカテーテルを植え込んだ。実験は翌日から開始し、3日間にわたって実施した。

プロトコールは、無麻酔、無拘束動物からの、平均BP、HRおよびドプラーシフトの植え込み消息子からの連続記録を含むした。局所血流および血管抵抗の百

肢消息子を施した動物($n=8$)にも実施した。

薬剤およびペプチド

ヒト α -CGRP (Celltech Ltd) を 1% ウシ血清アルブミン含有等張性食塩水に溶解し、ニモジピン(純品、Bayer, U.K.)は、PEG 4000、滅菌水およびグリセリン BP の 9.69 : 1.00 : 0.6 (重量比) 混合物に溶解した。ニモジピン溶液は、暗室で直光下(波長 500 nm 以下)に調製し、カテーテルおよびシリジはすべて自然光に溶液が暴露されるのを避けるために遮蔽した。注入速度は 0.4 ml / 時とした。

統計処理

すべてのデータは、適宜ウイルコクソンの順位和検定またはマン・ホイットニーの U 検定により、ノンパラメトリックな分散分析(フリードマン検定)に付した。

結果

内頸動脈消息子を施した動物

1 ヒト α -CGRP の作用

ヒト α -CGRP 0.06 nmol / 時の注入は HR の増加と中等度の内頸動脈充血を生じ、それに伴つて血管抵抗が低下した(図 3 および表 2 参照)。

ヒト α -CGRP 0.6 nmol / 時の注入は、頻脈、血压降下および内頸動脈血管床に著しい充血性血管拡張を生じた(図 3 および表 2 参照)。

2 ニモジピンビヒクルの作用

は、ニモジピン単独で認められた効果以上のものではなかつた(図 3)。

腎、腸間膜および下肢消息子を施した動物

1 ヒト α -CGRP の作用

ヒト α -CGRP の注入は、用量依存性の頻脈、血压降下ならびに腎および腸間膜血流の低下を生じ、これに下肢血流の増大を随伴した(表 2)。しかしながら、注入時には、下肢抵抗の変化のみが有意であつた(表 2)。高用量の注入後には、腸間膜血管抵抗の有意な増大を生じた(表 2)。

2 ニモジピンビヒクルの作用

ニモジピンビヒクルの注入は筋体的な頻脈を生じたが、これは特定の時点において有意になることはなかつた。平均 BP または局所血流の変化はみられなかつた。

3 ニモジピンの作用

ニモジピン 60 nmol / 時の注入では有意な作用はなかつた。しかしながら、600 nmol / 時の速度でのニモジピンの注入は、平均 BP および腎血流量の低下を生じ、これに伴つて HR および下肢血流量が上昇したが、腸間膜血流量には変化はなかつた(表 3)。注入時、腸間膜および下肢抵抗は低下したが、腎血管抵抗は上昇の傾向を示した。実際、注入後には腎血管抵抗はわずかがらさらに上昇し、全体的な変化は有意となつた(表 3 参照)。

分率変化は、他の記載(Gardinerら, 1989, Am. J. Physiol., 256, R332~338)に従つて計算した。

以下のプロトコールを実施した。

内頸動脈消息子を施した動物

1 ヒト α -CGRP の作用

ヒト α -CGRP (0.06 または 0.6 nmol / 時) を 30 分間注入した。

測定は、注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

2 ニモジピンビヒクルの作用

ニモジピンビヒクル(以下参照)を 30 分間注入した。測定は注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

3 ニモジピンの作用

ニモジピン(60 または 600 nmol / 時) を 30 分間注入した。測定は注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

4 ヒト α -CGRP プラスニモジピンの作用

ヒト α -CGRP とニモジピン(それぞれ 0.06 および 60 nmol / 時、またはそれぞれ 0.6 および 600 nmol / 時)を同時に 30 分間注入した。測定は注入前、注入時および注入 30 分後に実施した。

腎、腸間膜および下肢消息子を施した動物

上記プロトコール 1) ~ 4) を腎、腸間膜および下

ニモジピンビヒクルの注入は、HR の有意な($P < 0.05$) 低下(30 分で -23 ± 9 回 / 分)およびわずかな平均 BP の上昇(30 分で +5 ± 2 mmHg; $P < 0.05$) を生じたが、内頸動脈の血行動態には変化は認められなかつた。

3 ニモジピンの作用

ニモジピン 60 nmol / 時の注入は、一過性の内頸動脈流量の増加と血管抵抗の低下を生じた(図 3)。高用量のニモジピン(600 nmol / 時)は、血压降下と、内頸動脈血管床にかなりの充血性血管拡張を生じた。これらの作用は、ヒト α -CGRP の場合と異なり、注入中止後も持続した(図 3)。

4 ヒト α -CGRP プラスニモジピンの作用

ヒト α -CGRP (0.06 nmol / 時) をニモジピン(60 nmol / 時)と一緒に注入すると、各化合物単独で認められたよりも有意に($P < 0.05$) 大きな内頸動脈流量の増加と血管抵抗の低下を生じた(図 3 および表 2, 3, 4)。しかしながら、平均 BP および HR には有意な変化はなかつた(図 3)。

ヒト α -CGRP (0.6 nmol / 時) とニモジピン(600 nmol / 時)の同時投与では、各化合物単独で認められた血管拡張は有意に増強されなかつた(図 3)。ヒト α -CGRP の注入後、血管拡張は持続しなかつたが、ニモジピンとヒト α -CGRP の注入後には、持続的な血管拡張がみられた(図 3)。しかしながら、この効果

曲線下面積から評価すると、ニモジピン (600 nmol/時) の心臓管系作用はすべて、ヒト α -CGRP (0.6 nmol/時) の作用に比べ有意差 ($P < 0.05$) を示した。

4. ヒト α -CGRP とニモジピンの作用

ヒト α -CGRP (0.06 nmol/時) とニモジピン (60 nmol/時) との共注入時には、ヒト α -CGRP 単独で認められた頸脈および腸間膜血流量の低下とは対照的に、有意な頸脈も、腎または腸間膜血行動態の変化も認められなかつた。ヒト α -CGRP 単独でみられた一過性の作用と異なり、ヒト α -CGRP とニモジピンの注入時を通じて下肢の血管拡張は持続し、この場合には注入後の遅延下肢血管収縮もみられた。

ヒト α -CGRP (0.6 nmol/時) とニモジピン (6.00 nmol/時) の同時注入では、HR と腸間膜血流量を除くすべての心臓管系変数に、ヒト α -CGRP 単独の場合よりも有意に ($P < 0.05$) 大きな作用を生じた。しかしながら、ヒト α -CGRP とニモジピンと一緒に投与した場合には、ニモジピン単独で認められた以上の有意な血圧降下または腸間膜もしくは下肢血管拡張の増大は生じなかつた(表3および4)。一方、ヒト α -CGRP とニモジピンの併用投与は、ニモジピンまたはヒト α -CGRP 単独で認められたよりも有意に大きな腎血流量の低下と腎血管収縮の増大を生じた(表3および4)。

結論

以上の結果は、低用量のヒト α -CGRP とニモジピンは、相乘的な内頭動脈血管拡張作用を発揮し、しかも他の局所循環への悪影響または全身の血圧降下を生じないことを示している。高用量のヒト α -CGRP とニモジピンの共投与は、いずれかの化合物の単独に比べて、また低用量のヒト α -CGRP とニモジピンの同時投与の効果に比べて、内頭動脈血管拡張作用の増大を生じることはなかつた。

表2. 無麻酔 Long Evans ラットへのヒト α -CGRP (0.06 nmol/時) および注入30分後の心臓管系パラメーターの変化

(n = 8, 平均(S.E.M.))

	ヒト α -CGRP 0.06 nmol/時						ヒト α -CGRP 0.6 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60	
心拍数(回/分)	+18(6)	+31(11)*	+25(7)*	+11(8)	-4(7)	+1(6)	+12(0.7)*	+13(0.5)*	+13(0.8)*	+39(1.9)*	+10(1.1)	+3(5)*	+11(6)
平均BP(mmHg)	-4(2)	-3(2)	-3(2)	-1(2)	-2(3)	0(4)	-18(1)*	-18(1)*	-17(3)*	0(2)	+4(2)	+1(2)	-1(2)
腎血流(%)	-1(2)	-0(3)	-3(4)	-2(4)	-3(3)	-3(5)	-12(3)*	-12(3)*	-14(3)*	-2(3)	0(4)	0(6)	-5(5)
腸間膜血流(%)	-2(3)	-10(3)*	-8(3)*	-4(2)	-6(3)	-10(2)*	-27(4)*	-22(4)*	-20(5)*	-14(2)*	-9(5)	-4(4)	0(6)
下肢血流(%)	+11(11)	+5(4)	+6(6)	+0(4)	-1(7)	-3(5)	+24(5)*	+20(5)*	+31(6)*	+9(7)*	+2(6)	+6(4)	0(5)
骨筋血流(%)	-3(4)	+3(4)	+2(4)	+3(4)	+1(5)	+4(6)	-6(4)	-4(2)	-2(4)	+3(4)	+4(4)	+2(5)	+7(7)
腸間膜血流(%)	+5(6)	+9(5)	+7(4)	+4(4)	+5(5)	+11(5)	+1(6)	+20(6)	+8(8)	+15(4)*	+6(4)	+1(4)	+1(4)
下肢抵抗(%)	-10(5)*	-7(3)	-6(5)	+1(4)	+2(7)	+5(6)	-33(3)*	-32(4)*	-33(3)*	-6(6)	+2(4)	-4(5)	+2(7)

* $P < 0.05$ ベースラインに対して(フリードマン検定)

表3. 無麻酔 Long Evans ラットへのニモジピン (600 nmol/時) の注入時および注入30分後の心臓管系パラメーターの変化 (n = 8, 平均(S.E.M.))

	ニモジピン 600 nmol/時						
時間(分)	10	20	30	40	50	60	
心拍数(回/分)	+78(11)*	+89(10)*	+81(8)*	+53(11)*	+39(14)*	+34(15)	+28(15)
平均BP(mmHg)	-27(3)*	-27(3)*	-30(3)*	-22(3)*	-15(2)*	-13(3)*	-11(2)*
腎血流(%)	-27(4)*	-32(4)*	-34(5)*	-60(4)*	-23(5)*	-15(4)	-11(4)
腸間膜血流(%)	+7(4)	-1(4)	+1(4)	+3(5)	+2(5)	+11(4)*	+7(4)
下肢血流(%)	+52(9)*	+52(10)*	+59(10)*	+43(10)*	+27(9)*	+27(8)*	+18(5)*
骨筋血流(%)	+4(5)	+12(5)	+13(5)	+15(4)*	+13(5)	+6(5)	+2(5)
腸間膜抵抗(%)	-29(5)*	-23(4)*	-28(3)*	-21(4)*	-15(4)*	-20(4)*	-15(4)*
下肢抵抗(%)	-50(3)*	-49(4)*	-53(3)*	-42(4)*	-30(5)*	-28(5)*	-23(4)*

* $P < 0.05$ ベースラインに対して(フリードマン検定)

表4. 無麻酔 Long Evans ラットにヒト α -CPRG をよびモジビンの
注入時および注入30分後の心臓管系パラメーターの変化
〔n=8, 平均 (S.E.M.)〕

	時間 (分)	10	20	30	40	50	60
心拍数 (回/分)	+19(24)	+29(24)	+19(25)	-10(18)	-22(14)	-28(15)	
平均BP (mmHg)	+1(5)	+2(5)	-3(3)	-1(6)	-1(2)	0(3)	
腎血流 (ml/min)	0(3)	-1(3)	-2(3)	-5(3)	0(3)	+5(3)	
腸動脈血流 (%)	+1(4)	-1(3)	+6(4)	+2(5)	+2(5)	+3(6)	
下肢血流 (%)	15(6)*	+3(4)	+14(9)	-9(6)	-16(5)*	-15(5)*	
腎抵抗 (%)	+1(3)	+4(3)	0(2)	+3(5)	0(3)	-3(4)	
腸動脈抵抗 (%)	+3(8)	+5(6)	-8(4)	-1(7)	-1(6)	0(6)	
下肢抵抗 (%)	-11(4)*	+1(3)	-12(6)*	+11(7)	20(5)*	21(6)*	

* p < 0.05 ベースラインに対して (フリードマン検定)

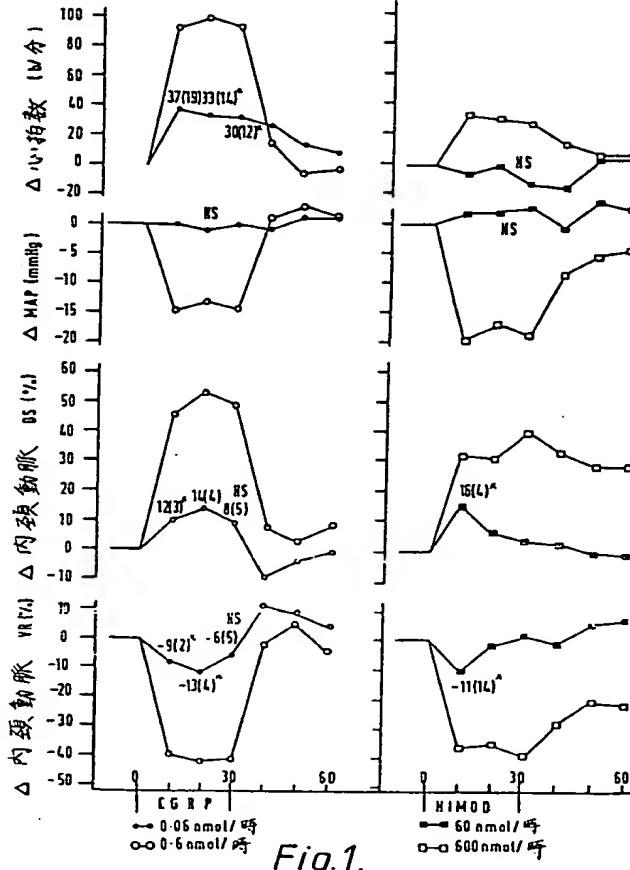


Fig. 1.

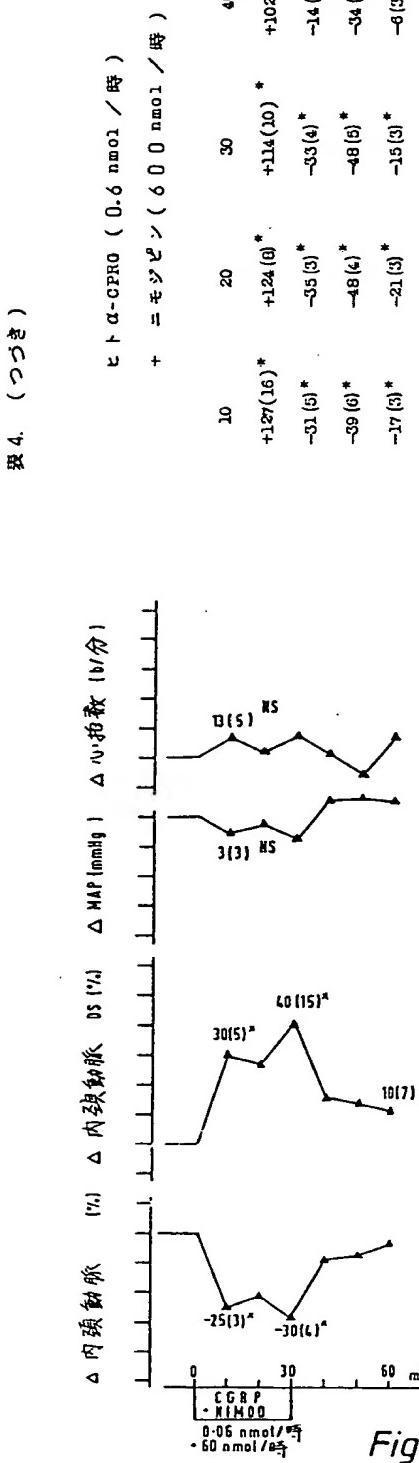


Fig. 2.

手続補正書(自発)

平成3年1月29日

特許庁長官殿

1. 事件の表示

PCT/GB90/00540

2. 発明の名称

治療用化合物、組成物およびその使用

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名 称 セルテック リミテッド

4. 代理人

居 所 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号
 新大手町ビルディング331
 電 話 (211) 3651 (代表)
 氏 名 (6669) 渋 村 翔



5. 補正の対象

明細書及び請求の範囲翻訳文

6. 補正の内容 別紙のとおり

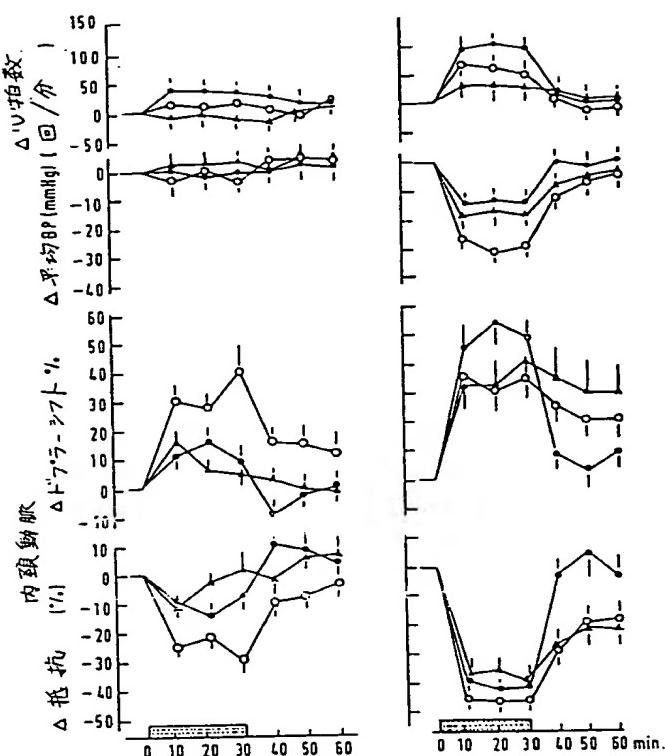
明細書及び請求の範囲翻訳文の添付
(内容に変更なし)

Fig.3.

国際調査報告

International Application No. PCT/GB 90/00540

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (in several classification symbols used, if possible, in both International Patent Classification (IPC) or in both National Classification and IPC)		
IPC ⁵ : A 61 K 37/02, // (A 61 K 37/02, 31:44)		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched *		
Classification System	Classification Symbols	
IPC ⁵	A 61 K	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Indicated in the Fields Searched *		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT*		
Category I Class of Document, ** with indication, where appropriate, of the relevant passages Reference to Class No.**		
X	Brain Research, vol. 475, 1988. Elsevier Science Publishers B.V., R. Oku et al.: "Calcitonin gene-related peptide modulates calcium mobilization in synaptosomes of rat spinal dorsal horn", pages 356-360 see page 356, abstract	1
** Several categories of class documents: "A" documents containing general state of the art which is not directly concerned with the subject matter of the application. "B" documents containing information which may be useful in connection with the examination of the application. "C" documents which are closely related to the subject matter of the application. "D" documents which are closely related to the subject matter of the application and which may be useful in connection with the examination of the application. "E" documents relating to an area other than the one, or relating to other fields. "F" documents relating to the examination stage date but which are generally used in common.		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Commencement of the International Search	Date of Filing of the International Search Report	
1st August 1990	12.03.90	
International Searching Authority	Signature of Authority	
EUROPEAN PATENT OFFICE	M. GOTO	

PCT/GB 90/00540	
FURTHER INFORMATION CONTINUES FROM THE RECORD SHEET	
<p>V. OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE*</p> <p>This International Search Report has not been prepared in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Class number _____ does not exist or cannot be assigned under Rule 6.4(a).</p> <p>* - claims 3,10 see PCT-Rule 39.1(IV) methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.</p> <p><input type="checkbox"/> Class number _____ because they relate to parts of the international application that do not comply with the provisions relating to such extent that no meaningful international search can be carried out consistently.</p> <p><input type="checkbox"/> Class numbers _____ because they are composite claims and are not suited to assignment with the subject and their components of PCT Rule 6.4(a).</p>	
<p>VI. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING*</p> <p>The International Searching Authority found multiple invasions in the international application as follows:</p> <p><input type="checkbox"/> All of the required additional search have been clearly set by the applicant, the International Search Report states of invasions of the international application.</p> <p><input type="checkbox"/> All only parts of the required additional search have been clearly set by the applicant, the International Search Report states of invasions of the international application for which two or more invasions claimed.</p> <p><input type="checkbox"/> No required additional search have been clearly set by the applicant. Consequently, the International Search Report is based on the invention first disclosed in the claims; it is covered by claim numbers _____.</p> <p><input type="checkbox"/> All of the required additional search have been clearly set by the applicant. Consequently, the International Search Report is based on the invention first disclosed in the claims; it is covered by claim numbers _____.</p> <p><input type="checkbox"/> All of the required additional search have been clearly set by the applicant without other publishing or disclosed to the International Searching Authority or the International Preliminary Examining Authority.</p> <p><input type="checkbox"/> No required additional search have been determined by applicant's agent.</p> <p><input type="checkbox"/> No required additional search have been determined by applicant's agent.</p>	

第1頁の続き

⑤Int.Cl.³
// A 61 K 37/24

識別記号

府内整理番号
8317-4C

⑥発明者 ベネット, テレンス

イギリス国 エヌジー7 2ジェイジエイ ノツテインガムシャー,
ー, ダンカーク, シティ ロード 26⑦発明者 ガーディナー, シエイラ マー
ガレットイギリス国 エヌジー9 2デイーデイー ノツテインガムシャー,
ー, ビーストン, ロウアー リージェント ストリート 157